

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

11 N° de publication : 2 740 331  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

21 N° d'enregistrement national : 95 12678

51 Int Cl<sup>6</sup> : A 61 K 7/06

12 DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

22 Date de dépôt : 25.10.95.

30 Priorité :

43 Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 30.04.97 Bulletin 97/18.

56 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule.*

60 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

71 Demandeur(s) : SEDERMA SA SOCIETE ANONYME  
— FR.

72 Inventeur(s) : GREFF DANIEL.

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire :

54 NOUVELLES COMPOSITIONS COSMETIQUES POUR LE TRAITEMENT DES CHEVEUX ET DU CUIR  
CHEVELU.

57 Les compositions cosmétiques contiennent un ou plu-  
sieurs esters de l'acide butyrique et optionnellement un ou plu-  
sieurs substrats de transglutaminases et/ou une pro-  
téine de type lectine végétale. Les dérivés butyriques, par  
exemple le butyrate de sodium ou un ester alkyl-butyrate  
interviennent dans la différenciation cellulaire en activant  
les transglutaminases qui elles, réticulent les protéines de  
l'enveloppe cellulaire et contribuent à l'ancrage du cheveux  
dans le follicule pileux. L'adjonction de substrats peptidi-  
ques des transglutaminases facilite cette tâche. De cette  
combinaison résultent une diminution de la perte excessive  
des cheveux et une meilleure prévention des alopecies.

FR 2 740 331 - A1



La santé et la beauté de la chevelure préoccupent un grand nombre de personnes. La chute excessive des cheveux et l'alopecie qui en résulte éventuellement, les cheveux fins, fragiles, trop peu nombreux, sont autant de sujets d'inquiétude des hommes et des femmes soucieux de leur apparence.

Le processus de la croissance des cheveux et les mécanismes régulant le cycle pileux sont très complexes et à ce jour insuffisamment élucidés. Quelques connaissances de base sur l'embryogenèse des cheveux, sur l'anatomie du follicule pileux et les événements biochimiques lors de la croissance du cheveux permettent néanmoins de réfléchir sur les remèdes possibles aux dysfonctionnements de la physiologie de la chevelure.

Il existe un grand nombre de produits destinés au traitement des cheveux ou du cuir chevelu sur le marché, dans la documentation scientifique et de brevets. Des extraits de plantes mal définis aux molécules pures de synthèse, des vitamines et hydrolysats de kératine aux composés soufrés divers, un immense éventail de traitements est proposé. Les mécanismes d'action de la plupart de ces produits ne sont ni décrits, ni connus, à quelques exceptions près.

Il existe donc toujours un besoin de produits efficaces et inoffensifs, basés sur un raisonnement scientifique, pour améliorer la vigueur du cuir chevelu, la santé des cheveux, pour diminuer la chute et pour favoriser la croissance des cheveux.

Pour comprendre l'objet du présent brevet, il convient de décrire quelques détails connus du processus de la croissance du cheveu :

La structure anatomique du follicule pilo-sébacé qui intervient le plus dans la croissance et l'ancrage du cheveux dans la peau est le bulbe pileux qui se compose de la matrice pileuse et de la papille dermique. La matrice se divise en une zone de forte prolifération cellulaire et d'une zone kératogène où se différencient les cellules pour donner naissance à la tige pileuse.

Différents facteurs de croissance (EGF, IGF-1, HGF) interviennent dans la stimulation de la croissance des kératinocytes et du follicule pileux.

Leur utilisation en application cosmétique n'est pas envisageable à cause de leurs effets secondaires imprévisibles et leurs coûts d'obtention prohibitifs.

- 5 En plus, il ne suffit pas de stimuler la prolifération des cellules, il faut assurer le bon ancrage du cheveu dans la gaine épithéliale, surtout en phase catagène et télogène; cela passe par une bonne kératinisation du bulbe pileux. Un des processus de kératinisation implique la réticulation des protéines (intégrines, adhésines, involucrine) par des transglutaminases (TG) qui lient les acides aminés glutamine d'une protéine aux résidus lysine
- 10 d'une autre protéine, renforçant ainsi la structure des enveloppes cellulaires.

L'objet du présent brevet est la découverte qu'un inducteur d'activité de TG, éventuellement accompagné d'un substrat des TG, permet de renforcer l'ancrage des cheveux dans le cuir chevelu, et de ralentir la chute des cheveux durablement.

- 15 Cet effet est encore augmenté si la préparation cosmétique contenant l'inducteur de TG et le substrat de TG contient également un stimulateur de la prolifération cellulaire du type lectine végétale.

- Lee et al. [K.N. Lee, P.J. Birckbichler, M.K. Patterson Jr., E. Conway and M. Maxwell 1987, Biochim. Biophys. Acta **928**, 22-28] décrivent l'induction de
- 20 la biosynthèse de transglutaminases cellulaires par le butyrate de sodium. Par ailleurs, la présence et l'importance biologique des transglutaminases dans le follicule pileux ont été décrites par Goldsmith [Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin, L.A. Goldsmith, ed., 1991, Oxford University Press, p. 189]: il y est postulé que la réticulation des
- 25 protéines par l'intermédiaire des TG contribue à une meilleure résistance des cheveux contre la protéolyse et les agressions extérieures.

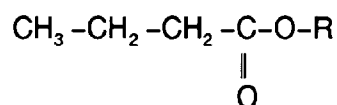
- Le butyrate de sodium n'est pourtant pas utilisable dans le domaine de la cosmétique à cause de son odeur. Les dérivés esters (alkyl, aryl, stérol) d'acide butyrique ne souffrent pas de cet inconvénient ; en plus, leur durée
- 30 de vie dans un milieu cellulaire est plus long, l'acide gras libre étant métabolisé trop rapidement pour être très efficace.

L'utilisation d'alkylbutyrate, en particulier de butyrate de n-octane-1-ol dans des compositions cosmétiques et dermatopharmaceutiques, pour stimuler la biosynthèse des transglutaminases dans les cellules du follicule pileux humain, est nouvelle. Cette utilisation des dérivés de l'acide butyrique conduit à un ralentissement de la chute des cheveux comme nous allons le voir dans les exemples (cf. plus loin).

Nous avons découvert en outre que l'adjonction d'un hydrolysât protéique riche en résidus glutaminiques, améliore l'effet obtenu avec les dérivés butyriques. Ces hydrolysats riches en résidus glutaminiques peuvent servir de substrat aux transglutaminases (exemple n° 2). Ils sont obtenus par hydrolyse (préférentiellement enzymatique) à partir des protéines végétales d'origine céréalière ( blé, orge, maïs), possèdent un poids moléculaire moyen supérieur à 1000 daltons et contiennent environ 20% ou plus de glutamine dans leur composition en acides aminés. La glutamine étant le résidu reconnu par la transglutaminase pour effectuer la réticulation, il s'avère que les peptides riches en glutamine participent ainsi à un meilleur ancrage des cheveux dans leur gaine épithéliale.

Prolifération et différenciation sont deux étapes complémentaires de la croissance d'un organisme, voire d'un organe ou de leurs annexes. Favoriser l'un (induction de TG et réticulation des protéines) ne doit pas interférer avec l'autre, la génération constante de nouvelles cellules fournissant le cheveu naissant. Chany et coll. [M.F. Bourgeade et C. Chany 1979, Int. J. Cancer **24**, 314-318] ont montré que l'Interféron seul ou avec le butyrate de sodium pouvait inhiber la prolifération cellulaire de cellules transformées. Par ailleurs, Chany a montré l'effet des sarcolectines sur l'interaction entre Interféron et Facteurs de Croissance: si l'Interféron inhibe l'action des facteurs de croissance, les sarcolectines peuvent lever cette inhibition.

- Pour éviter que le dérivé butyrate n'entraîne un ralentissement de la croissance cellulaire au niveau du follicule pileux, tout en améliorant la kératinisation et l'ancrage du cheveu dans sa gaine, nous avons cherché des substances aux propriétés "sarcolectine-like" pour assurer le maintien, voire stimuler le taux de prolifération des kératinocytes du follicule pileux. Nous l'avons trouvé dans des protéines extraites de *Solanum tuberosum* L., d'*Helianthus tuberosus* L. et d'autres plantes légumineuses à tubercules, elle se caractérise par un poids moléculaire d'environ 20000 daltons, présente en monomère, dimère ou trimère, très résistante à la protéolyse, à la chaleur et aux variations de pH et capable de provoquer l'agglutination de lymphocytes *in vitro*, donc aux propriétés semblables à celles des lectines connues, et qui est capable de fortement stimuler la croissance de fibroblastes et/ou de kératinocytes humains en culture, à faible dose et sans aucune toxicité.
- L'invention, objet du présent brevet, a pour but de proposer des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques contenant un ou plusieurs esters d'acide butyrique, de formule générale



- où R est une chaîne alkyle linéaire ou ramifiée, hydroxylée ou non, saturée ou insaturée, contenant entre 2 et 20 atomes de carbones, préférentiellement entre 4 et 10 atomes de carbones, pour le traitement du cuir chevelu et des cheveux.

- Un autre but de l'invention est de proposer des compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques contenant en plus des esters d'acide butyrique des hydrolysats protéiques riches en glutamine, substrats de transglutaminase, et/ou des protéines d'origine végétale douées d'activité biologique (protéines du type lectine végétale) telles qu'elles stimulent la prolifération cellulaire des fibroblastes et des kératinocytes en culture, même en présence d'interféron, de butyrate de sodium etc.

Préférentiellement l'ester d'acide butyrique est le butyrate de n-octane-1-ol. Préférentiellement l'hydrolysât de protéines est obtenu par hydrolyse enzymatique des protéines de blé, contenant environ 20% de résidus glutamines et possédant un poids moléculaire moyen de 2000 daltons.

- 5 Préférentiellement la protéine végétale de type lectine est obtenue à partir des tubercules de plantes légumineuses, possédant un poids moléculaire apparent d'environ 20.000 daltons, possédant une activité stimulatrice de la prolifération cellulaire en culture et ne manifestant aucune toxicité. Les expériences suivantes décrivent quelques détails du champ
- 10 d'application de l'invention.

Exemple n° 1:

Obtention d'une protéine aux activités "sarcolectine-like" (protéine du type lectine végétale):

1 kg de topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) est soumis à une extraction aqueuse.

- 15 Après élimination de l'amidon, on fractionne la solution protéique selon les méthodes usuelles et on sélectionne les fractions selon leur capacité de stimulation de la prolifération cellulaire. Après lyophilisation on obtient environ 1 g de protéine d'un poids moléculaire d'environ 20000 daltons sous forme de monomère, dimère ou trimère, douée d'un fort pouvoir stimulateur.
- 20 Un produit de ce type est commercialisé par exemple sous le nom de Capilectine<sup>R</sup> (SEDERMA).

Exemple n° 2:

Mise en évidence de la capacité des hydrolysats riches en glutamine de servir comme substrat à la transglutaminase:

- 25 On fait réagir le dansylcadavérine (amine fluorescente) à 0.3% avec l'hydrolysât riche en glutamine (0.25-1%) en présence de transglutaminase (Sigma, 2U/ml) dans un tampon Tris à pH 6. Le mélange réactionnel est incubé dans des microplaques 96 puits, agité sur table orbitale et maintenu pendant 2 heures à 37°C.

Les mélanges sont ensuite déposés sur plaque de silice pour chromatographie en couche mince. On dépose également les contrôles, à savoir l'hydrolysate seul, l'enzyme seule, l'amine fluorescente seule, ainsi que l'amine avec l'hydrolysate sans l'enzyme et l'amine avec l'enzyme sans hydrolysate. Après migration dans un système de solvants approprié, la

5 révélation se fait sous lampe UV à 254 nm.

On constate aisément que seuls les mélanges contenant les trois composants (enzyme, dansylcadavérine, hydrolysate riche en glutamine) donnent naissance à une tâche fluorescente au niveau de la valeur  $R_f$  de l'hydrolysate. L'action de l'enzyme a été d'attacher l'amine fluorescente sur les résidus glutamine de l'hydrolysate.

10

Quelques exemples de formulations cosmétiques illustrent la mise en oeuvre de l'invention.

Exemple n° 3: Lotion capillaire de friction:

15	Propylène glycol	10.0
	Alcool éthylique	5.0
	butyrate de n-octane-1-ol	0.1
	hydrolysate protéique de blé riche en glutamine	1.0
	Capilectine <sup>R</sup> (protéine de type lectine végétale dosée à 0.05%)	5.0
20	eau, conservateurs, parfums	qsp 100

Exemple n° 4: Shampoing traitant

	Texapon N70	13.0%
	Dehyton K	8.0%
	Abil B8851	0.5%
25	Tegosoft CG	2.0%
	Sorbitol	1.0%
	Butyrate d'isobutyle	0.05%
	Hydrolysate d'orge enrichi en glutamine	0.5%
	Conservateurs, parfum, eau	qsp 100

Exemple n° 5:

Mise en évidence de l'effet dermocosmétique d'un traitement selon l'invention (ralentissement de la chute des cheveux):

20 personnes (15 hommes et 5 femmes) âgées de 32 à 58 ans, ont été  
5 sélectionnées sur la base d'un examen dermatologique des cheveux et du cuir chevelu. A l'aide de la méthode du trichogramme, il a été possible de quantifier l'état de santé de la chevelure des 20 personnes. Pendant 6 semaines, les panelistes ont appliqué soit une lotion capillaire de massage selon exemple n° 3 (groupe 1 de 10 personnes), soit une lotion placebo ne  
10 contenant ni lectine végétale, ni butyrate de n-octane-1-ol ni hydrolysats protéiques (groupe 2).

Une nouvelle analyse par trichogramme et par examen dermatologique a été effectuée après la durée du traitement. Les résultats obtenus par comparaison des données avant et après le traitement aux lotions de  
15 massage montrent que l'état de santé de la chevelure traitée avec la lotion selon l'exemple n° 3 s'est fortement amélioré: le nombre de cheveux en phase de croissance est augmenté de façon significative, la chute excessive est arrêtée, les cheveux sont plus vigoureux, plus épais, moins fragiles. Le groupe traité par la lotion placebo n'a pas montré d'amélioration significative.  
20 Les dérivés de l'acide butyrique selon l'invention peuvent être des esters obtenus par tout moyen habituel (synthèse à partir de chlorure d'acide, d'anhydrides mixtes, par catalyse acide, par transestérification enzymatique, par extraction).

On peut utiliser les alcools aliphatiques mono, di ou trivalents de  $C_2$  à  $C_{20}$   
25 linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés, préférentiellement on utilise les alcools à chaîne courte ou moyenne ( $C_4$  à  $C_{10}$ ) linéaire. Il est également possible d'utiliser les alcools aromatiques, triterpéniques et stéroïques qui forment un ester de butyrate facilement hydrolysable par les estérases de la peau.



Les concentrations d'utilisation des esters d'acide butyrique peuvent varier entre 0.005 et 20%, préférentiellement entre 0.02 et 1% (p/p de la formule finale). Il s'avère avantageux de combiner les esters d'acide butyrique avec des hydrolysats de protéines céréalières riches en glutamine et d'un poids moléculaire supérieur à 1000 daltons, dans les préparations cosmétiques objets de l'invention. La concentration de ces hydrolysats peut varier entre 0.01% et 20%, préférentiellement entre 0.1% et 1% (p/p) du produit fini. Il est particulièrement avantageux d'incorporer dans le produit dermocosmétique, en plus des esters d'acide butyrique et des hydrolysats protéiques, une protéine d'origine végétale aux propriétés proches des lectines. Les concentrations de cette protéine peuvent varier entre 0.0001 et 0.01% (p/p), préférentiellement entre 0.001 et 0.005% du produit fini. Les esters d'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale, objets du présent brevet, peuvent être utilisés dans toute forme galénique employée en cosmétique: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, gels, pommades, shampooings et après-shampooings, savons, laques pour cheveux, sans que cette liste soit limitative.

Il est possible d'incorporer les esters d'acide butyrique décrits additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale dans des vecteurs cosmétiques comme les liposomes, les chylomicrons, les macro-, micro- et nanoparticules ainsi que les macro-, micro- et nanocapsules; on peut les adsorber sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.

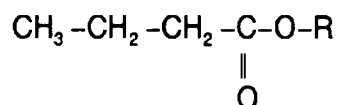
Les esters d'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale, objets du brevet peuvent être combinés dans les compositions cosmétiques avec tout autre ingrédient habituellement utilisé en cosmétique: lipides d'extraction et/ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, extraits d'autres plantes, extraits tissulaires, extraits marins.

Les compositions cosmétiques contenant les esters d'acide butyrique

- additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale, objets du présent brevet sont destinées aux traitements et aux soins des cheveux et du cuir chevelu, à savoir le traitement contre la
- 5 chute des cheveux, leur protection contre la pollution et l'agression, le traitement anti-vieillessement et la protection solaire des cheveux, l'hydratation et l'effet de lissage, le traitement pour augmenter la facilité de coiffage, pour augmenter le volume apparent.

## REVENDEICATIONS

1. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu contenant un ou plusieurs esters de l'acide butyrique de formule générale



- 5 où R est une chaîne alkyle linéaire ou ramifiée, hydroxylée ou non, saturée ou insaturée, contenant entre 2 et 20 atomes de carbones, préférentiellement entre 4 et 10 atomes de carbones.
- 10 2. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon la revendication 1 caractérisées en ce que l'ester de l'acide butyrique est le butyrate de n-octane-1-ol.
- 15 3. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon les revendications 1 et 2 caractérisées en ce qu'elles contiennent en outre un hydrolysate de protéines céréalières riche en glutamine de poids moléculaire supérieur à 1000 daltons et/ou une protéine du type lectine végétale.
- 20 4. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisées en ce que l'hydrolysate protéique est obtenu par hydrolyse enzymatique des protéines de blé et qu'il contient environ 20% de résidus glutamine et possède un poids moléculaire moyen de 2000 daltons.

5. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisées en ce que la protéine du type lectine végétale est obtenue à partir des tubercules des plantes légumineuses, possède un poids moléculaire apparent d'environ 20.000 daltons, possède une activité stimulatrice de la prolifération cellulaire en culture et ne manifeste aucune toxicité.
6. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisées en ce que la concentration des esters de l'acide butyrique varie entre 0.005 et 20% (p/p), préférentiellement entre 0.02 et 1% dans le produit fini, la concentration d'hydrolysat protéique varie entre 0.01% et 20%, préférentiellement entre 0.1% et 1% (p/p) du produit fini et la concentration de la protéine de type lectine végétale varie entre 0.0001 et 0.01% (p/p), préférentiellement entre 0.001 et 0.005% du produit fini.
7. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisées en ce que les esters de l'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale sont utilisés dans toute forme galénique employée en cosmétique: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, gels, pommades, shampooings et après-shampooings, savons, laques pour cheveux, sans que cette liste soit limitative.

8. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisées en ce que les esters d'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale sont incorporés dans des vecteurs cosmétiques comme les liposomes, les chylomicrons, les macro-, micro- et nanoparticules ainsi que les macro-, micro- et nanocapsules, de les absorber sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.
- 5
9. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 caractérisées en ce que les esters d'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale, sont combinés dans les compositions cosmétiques avec tout autre ingrédient habituellement utilisé en cosmétique: lipides d'extraction et ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, extraits d'autres plantes, extraits tissulaires, extraits marins.
- 10
10. Compositions cosmétiques destinées au traitement du cheveu et du cuir chevelu selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 caractérisées en ce que les compositions cosmétiques contenant les esters de l'acide butyrique additionnés ou non d'hydrolysats protéiques et/ou de protéine du type lectine végétale sont destinées aux traitements et aux soins des cheveux et du cuir chevelu, à savoir le traitement anti-vieillessement et la protection solaire des cheveux, l'hydratation et l'effet de lissage, le traitement contre la chute des cheveux, leur protection contre la pollution et l'agression, le traitement pour augmenter la facilité de coiffage, pour augmenter le volume apparent.
- 20
- 25

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	EP-A-0 129 778 (LION) 2 Janvier 1985 * revendications 1-3,11 *	1
	---	
A	EP-A-0 483 689 (KA0) 6 Mai 1992 * revendication 1 *	1
	---	
A	DE-A-19 61 146 (KOLMAR) 25 Juin 1970 * revendication 1 *	1
	---	
A	DE-A-35 22 853 (LION) 2 Janvier 1986 * revendication 1 *	1
	---	
A	WO-A-91 15187 (PROCTER & GAMBLE) 17 Octobre 1991 * revendications 1,5; exemple II *	1
	---	
A	DE-A-42 29 962 (ALCINA) 10 Mars 1994 * revendications 1,11 *	1,3
	---	
D,A	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, vol. 928, 1987, pages 22-28, XP002009651 K. N. LEE ET AL: "Induction of cellular transglutaminase biosynthesis by sodium butyrate" * page 27 *	1
	-----	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6)
		A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
30 Juillet 1996		Voyiazoglou, D
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ----- &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		